

PREPARACION DE PELICULAS MEDIANTE POLIMERIZACION ENZIMATICA DE ANILINA *IN SITU*

N. Carrillo¹, M.E. Nicho¹, J. Romero-García², F.F. Castillon³,
M.H. Farias³, R. Cruz Silva^{1,*}.

¹ Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas, UAEM Av. Universidad 1001
Col. Chamilpa, CP 62209 Cuernavaca, Mor.

² Centro de Investigación en Química Aplicada, Blvd. Enrique Reyna #140 Saltillo, Coah.

³ Centro de Ciencias de la Materia Condensada de la UNAM,
Apdo. Postal 2681 C.P. 22800 Ensenada, B.C., México

*Autor de correspondencia: rcruzsilva@uaem.mx

Abstract

En este trabajo, se estudia la polimerización enzimática de anilina *in situ*, como una alternativa para la preparación de películas delgadas de polianilina. Las películas obtenidas fueron caracterizadas mediante distintas técnicas analíticas, mientras que la cinética de polimerización se estudio mediante el monitoreo electroquímico de la reacción. El efecto de distintos ácidos, tales como el canforsulfónico y el toluensulfónico, así como aditivos inertes como el alcohol polivinílico y el surfactante dioctilsulfosuccinato de sodio, mostraron tener un profundo efecto en la morfología de la película. La caracterización por voltametría cíclica muestra que las películas son electroactivas, aunque las técnicas espectroscópicas muestran que estructuralmente el polímero contiene numerosos defectos, tales como ramificaciones. El monitoreo electroquímico muestra que la reacción de polimerización es muy rápida, con tiempos típicos de polimerización menores a 90 s. El análisis de XPS muestra una gran cantidad de grupos amino terminales, los cuales pueden tener potenciales aplicaciones para inmovilizar biomoléculas en la superficie de estas películas.

Introducción

La polianilina (PANI) sigue siendo uno de los principales polímeros conductores debido a su potencial aplicación en numerosas áreas tecnológicas. Algunos de sus atributos son: estabilidad química, propiedades redox y conductividad eléctrica relativamente alta [1]. Sin embargo, sus aplicaciones se han visto limitadas por la dificultad en su procesado, ya que este polímero conductor es comúnmente un polvo verde insoluble e infusible. Una de las aplicaciones más comunes es la preparación de películas delgadas para modificar las propiedades físicas y químicas de una superficie. Uno de los métodos más ampliamente usados para preparar este tipo de películas de PANI, es la polimerización oxidativa *in situ*. Este proceso consiste básicamente, en sumergir un sustrato a modificar en medio acuoso donde se lleva a cabo una polimerización oxidativa de anilina. El mecanismo comprende la adsorción del monómero en la superficie del sustrato, su oxidación para formar una película ultradelgada (2-10 nm) de polímero, y finalmente el depósito de una película de PANI de mayor grosor (hasta 1 μm) [2,3]. Usando esta técnica, comúnmente referida como polimerización *in situ*, se han modificado una gran cantidad de sustratos de composición orgánica e inorgánica, así como hidrofílicos e hidrofóbicos. La única restricción es que la polimerización química oxidativa se lleva en un medio fuertemente ácido y oxidante, por lo que sustratos sensibles a estas condiciones no pueden ser modificados por este método.

La polimerización enzimática es una alternativa ecológicamente benigna a la polimerización química [4,5]. Esta polimerización es llevada a cabo también en medio acuoso por un mecanismo oxidativo, pero es llevada a un pH considerablemente menos ácido. Esto permite llevar a cabo la polimerización oxidativa de anilina en presencia de sustratos o sustancias muy sensibles, que en el medio de reacción químico reaccionarían. En este trabajo, se estudia la polimerización enzimática de anilina *in situ*, como una alternativa para la preparación de películas delgadas de PANI. Las películas

obtenidas fueron caracterizadas mediante distintas técnicas analíticas, mientras que la cinética de polimerización se estudio mediante el monitoreo electroquímico de la reacción.

Sección experimental

Materiales.- La enzima Peroxidasa de rábano (EC 1.11.1.7) (588 U/mg) fue adquirida de Biochimica. El Buffer Hydrion pH 4.0, la Anilina (99.5 % pureza), el ácido p-toluensulfónico monohidratado (TSA), el ácido 10-canforsulfónico (CSA) 98 %, el peróxido de hidrógeno, al 30 %, el alcohol poli(vinílico) (PVA), el surfactante dioctilsulfosuccinato de sodio (AOT), el ácido etilendiaminotetraacético y el Hidróxido de Sodio fueron adquiridos de Aldrich, Al amoniaco y el ácido clorhídrico

Métodos.- La polimerización enzimática de anilina fue llevada acabo a temperatura ambiente en 5 mL de una solución buffer 0.2 M de pH 4.0 que contiene una relación Molar de 1:1 de TSA – Anilina, la cual se mantiene en agitación constante. Posteriormente se le adiciona 12.3 ml de Buffer pH 4 y 14.6 mg de EDTA preparado. Una vez que se han diluido totalmente se procede a adicionar 2.5 ml de peroxidasa de rábano, previamente preparada en solución buffer pH 4 con 0.8 mg/ml. La reacción se inicia por una adición de 0.55 ml de peróxido de hidrógeno bajo una agitación constante, para evitar la inhibición de la peroxidasa de rábano debido al exceso de peróxido de hidrógeno se adicionó al 3 %. Después de esta adición, la reacción se deja con agitación por un lapso de 1 hora 30 minutos. Las películas obtenidas de PANI se lavan con agua destilada y se secan para su caracterización. La polimerización enzimática llevada a cabo con PVA como aditivo se realiza bajo las mismas condiciones sólo considerando la adición de un 2% en peso de PVA.

Caracterización.- Los estudios electroquímicos se llevaron a cabo en un potenciostato BAS 100 EW, usando un contraelectrodo de platino y un electrodo de Ag/AgCl como referencia. Las imágenes de SEM se obtuvieron en un Equipo TopCom. El análisis de espectroscopia fotoelectrónica de rayos X se llevó a cabo en un equipo Riber LDM-32. La línea de rayos X de Al Ka de 1486.6 eV fue usada como fuente de rayos X. Las energías de enlace se calibraron con respecto al Cu 2p_{3/2} a 932.67 eV y Ag 3d_{5/2} a 368.26 eV, respectivamente. La presión base en la cámara de análisis fue de aproximadamente 10⁻¹⁰ Torr. Todos los espectros obtenidos fueron corregidos tomando el pico de C 1s a 284.5 eV como referencia. La deconvolución se hizo usando curvas de forma gaussiana manteniendo constante el FWHM para todos los componentes de un espectro en particular.

Resultados y Discusión

El potencial de circuito abierto (OCP) es una técnica adecuada para monitorear polimerizaciones oxidativas [6]. En la Figura 1 se muestra como cambia el OCP, se observa que al agregar el peróxido de hidrógeno (flecha hacia arriba) se produce un incremento de aproximadamente 0.20 V, indicando la presencia de especies oxidantes. Se puede observar que a medida que se incrementa la concentración de enzima de 0.1 mg/mL a 0.2 mg/mL, el tiempo de reacción se reduce de 20 s a 15 s. La adición de un 2% en peso de PVA ocasiona una reducción en la tasa de polimerización, incrementando el tiempo de reacción aproximadamente al doble. Después del periodo de oxidación el OCP disminuye nuevamente una vez que las especies oxidantes se han agotado. Comparada con estudios de polimerización química, se puede ver que bajo las condiciones empleadas en este trabajo para la polimerización enzimática, esta transcurre mas rápidamente. Esta aceleración de la reacción debe tener un efecto en la

morfología, pues estudios anteriores han mostrado que polimerizaciones rápidas favorecen la formación de películas delgadas [3].

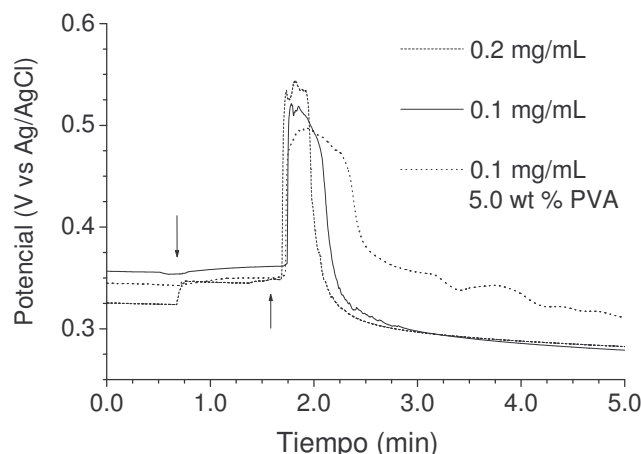


Figura 1.- Monitoreo de la reacción de polimerización enzimática mediante evolución del potencial del circuito abierto del medio de reacción.

En la Figura 2 se puede observar la morfología de las películas de polianilina preparadas en presencia de TSA (Figura 2a). Esta película consta de numerosos agregados menores a una micra. También se puede observar la presencia de algunas partículas coloidales de alrededor de 400 nm. Estas partículas se forman muy probablemente adheridas al sustrato, pues en algunos lugares se observan cráteres que corresponden al diámetro de esta partícula. Esto difiere con algunos estudios de películas preparadas por vía química [2], en que las partículas de PANI se adhieren al sustrato una vez que ha concluido la formación de la película. La adición de PVA (Figura 2b) como aditivo ocasiona una reducción en el tamaño de las partículas coloidales, muy probablemente a su efecto estérico. Estudios de perfilometría de estas películas indican que su grosor se reduce notablemente. Al cambiar de ácido dopante, usando el CSA en vez del TSA, la morfología cambió notablemente, observándose la presencia de algunas partículas huecas. Por otra parte, la adición de un surfactante alteró dramáticamente la morfología observándose numerosos agregados de distinto diámetro, variando entre los 100 a 800 nm.

La Tabla I muestra el análisis de XPS de las muestras de PANI desdopadas (Muestras 1 a 4) comparadas con la muestra de PANI de referencia. Se puede observar que la contribución de las especies oxidadas ($-N=$) es menor a la esperada para la estructura lineal de emeraldina, que es de 0.5. Este aparentemente bajo grado de oxidación es en realidad causado por la presencia de grupos entrecruzados y ramificados de polianilina [4]. Este tipo de estructura fue comprobada mediante espectroscopía de infrarrojo y de UV-Vis (no mostradas). Sin embargo, las películas de polianilina mostraron electroactividad al ser estudiadas mediante voltametría cíclica. La estabilidad térmica de estas películas fue menor que las preparadas mediante polimerización química, lo cual también indica la presencia de defectos estructurales que disminuyen su estabilidad térmica. La presencia de los numerosos grupos amino terminales en la superficie de estas películas, las hacen potencialmente aplicables para inmovilizar biomoléculas en electrodos modificados.

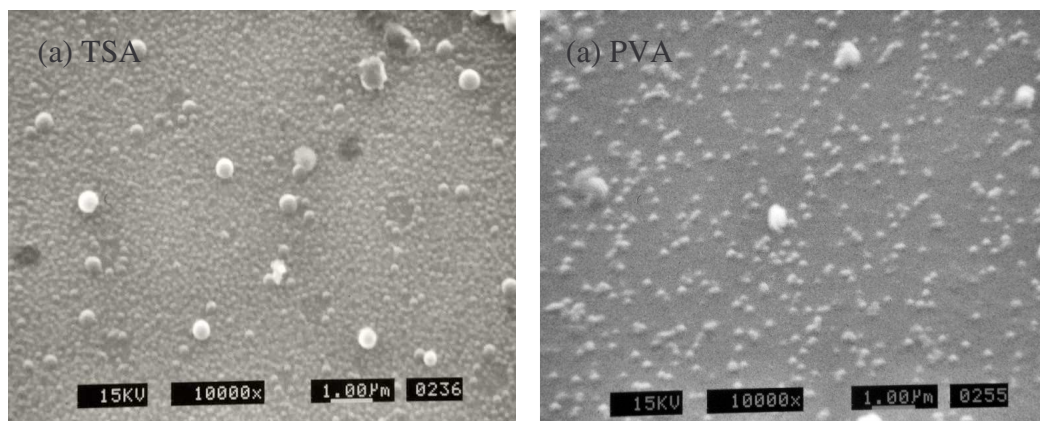


Figura 2.- Microscopia electrónica de barrido de la películas de PANI preparadas enzimáticamente: (a) Polianilina sintetizada en presencia de TSA como dopante y (b) PANI sintetizada en presencia de TSA utilizando PVA como estabilizador estérico.

Tabla 1.- Analisis superficial de las películas de polianilina mediante espectroscopía fotoelectrónica de rayos X. En las columnas de izquierda a derecha tenemos la relacion nitrógeno/carbono [N/C], el grado de oxidación [-N=N], el contenido relativo de grupos amino[-NH-/N], el grado de dopado[N+/N] y el grado de Carbono ideal [C^a/C].

Muestra	[N/C]	[-N=N]	[-NH-/N]	[N+/N]	[C ^a /C]
(1) TSA	0.09	0.00	0.77	0.23	0.75
(2) CSA	0.15	0.12	0.78	0.10	0.79
(3) TSA+PVA	0.05	0.34	0.47	0.20	0.87
(4) TSA+AOT	0.14	0.10	0.69	0.21	0.77
(5) TSA-dopada	0.12	0.21	0.69	0.10	0.81
(6) Química (referencia)	0.12	0.07	0.74	0.19	0.73

Conclusiones

La polimerización vía enzimática ocurre rápidamente y sin periodo de inducción típicamente en periodos de tiempo menores a un minuto. Las películas preparadas mediante síntesis enzimática *in situ* de anilina poseen una estructura ramificada y una menor regularidad estructural que las preparadas mediante polimerización química. El análisis de voltametría indica que poseen suficiente electroactividad para modificar la superficie de electrodos.

Agradecimientos

Se agradece a Antonio Díaz del CCMC-UNAM su apoyo en la espectroscopía fotoelectrónica de rayos X y a Gabriela Padrón y Blanca Huerta (CIQA) su apoyo técnico en análisis de infrarrojo y en análisis térmico.

Referencias

1. A.G. MacDiarmid *Curr Appl Phys* 2001, 1, 269-279.
2. J. Stejskal; I. Sapurina; J. Proke; J. Zemek *Synth Met* 1999, 105, 195.
3. I. Sapurina; A. Yu; B.Z. Osadchev; Volchek; M. Trchova; A. Riede and J. Stejskal *Synth Met*, (2002), 29-37

4. W. Liu; J. Kumar; S. Tripathy.; K.J. Senecal; L.A. Samuelson *J. Am. Chem. Soc.* 1999, *121*, 71-78.
5. R. Cruz-Silva; J. Romero-García; J.L. Angulo-Sánchez; A. Ledezma-Pérez; E. Arias-Marín; I. Moggio; E. Flores-Loyola *Eur Polym J*, Volume 41, Issue 5, May 2005, Pages 1129-1135
6. Y. Wei; K.F. Hsueh; G.-W. Jang *Polymer* 1994, *35*, 3572.